

147

## CONFÉRENCE DONNÉE PAR M. STARZL (DENVER, U. S. A.)

le 26 novembre 1966

dans le cadre des X<sup>es</sup> Journées Chirurgicales du Sud-Est

### LA GREFFE DU REIN

MESDAMES ET MESSIEURS,

Je pourrais ajouter fort peu de choses aux rapports éloquents de la littérature française sur l'homotransplantation rénale.

Cependant, dans certains secteurs de la recherche clinique, nous avons orienté nos efforts dans une direction quelque peu différente. Je vais donc, avec vous, concentrer mon attention sur trois sujets spécifiques.

Tout d'abord, j'aimerais dire un mot des résultats obtenus à l'Université de Colorado depuis le début de notre programme. Notre premier matériel clinique peut être divisé en différents groupes de patients.

1° Nous avons opéré trois jumeaux monozygotes il y a 7 mois, 3 ans 1/2 et 4 ans 1/2. Tous sont en vie.

2° Nous avons plusieurs fois rapporté le sort de 64 patients qui ont reçu un rein d'un donneur vivant entre novembre 1962 et mars 1964. Tous les patients de ce groupe, qui sont encore en vie, ont actuellement dépassé de 2 ans 1/2 à 4 ans de survie. Vous voyez ici la courbe de survie de ce groupe. La moitié exactement sont encore en vie. Tous ont maintenant une fonction rénale acceptable.

Dans notre expérience, avec ces 64 patients, les résultats diffèrent considérablement suivant que le donneur était apparenté ou non. Près des 2/3 des 46 patients qui ont reçu un rein apparenté sont encore en vie aujourd'hui.

De plus, 2 patients seulement sont morts au-delà du 6<sup>e</sup> mois post-opératoire. Par contre, sur 18 patients qui ont reçu un rein non apparenté, 6 seulement ont vécu plus d'un an, 4 plus de deux ans et 3 seulement sont encore actuellement en vie.

..

Il nous faut dire que les résultats obtenus en employant des donneurs vivants dans cette première série de 64 patients, le furent alors qu'aucune méthode n'était disponible pour déterminer l'histocompatibilité.

Les bons résultats obtenus pour les cas apparentés pourraient s'expliquer par le fait que la chance d'obtenir accidentellement un bon donneur est beaucoup plus grande au sein de la famille que dans une population non apparentée. Pour vérifier cette hypothèse, tous les survivants de cette série et leurs donneurs respectifs, furent étudiés rétrospectivement du point de vue antigénique, par le Dr TERASAKI, de Los Angeles. De plus, tous les patients encore en vie après 2 ans subirent une biopsie chirurgicale de la greffe à ce moment-là.

Le matériel histologique fut classé en fonction de la qualité de sa préservation, et cette classification comparée à celle obtenue par TERASAKI sur la base du matching antigénique. Un très haut degré de corrélation fut établi entre la qualité du matching antigénique et le degré de préservation des reins après deux ans.

Encouragés par cette découverte, nous avons entrepris, à Denver, une seconde série de transplantations où le donneur était choisi par TERASAKI. Dans le groupe des patients apparentés, le choix fut nettement limité par le nombre restreint de donneurs disponibles au sein de la famille. Dans le groupe non apparenté, la réserve de donneurs potentiels était comprise entre 50 et 100 personnes. C'était là le résultat d'un programme mis au point avec la prison de l'Etat du Colorado.

26 de ces derniers cas furent opérés il y a plus d'un an. Les patients de cette série qui reçurent un rein non apparenté, ont eu un sort approximativement aussi favorable que ceux qui reçurent un rein d'un membre de leur famille. Ceci suggère que le matching antigénique prospectif peut être capable d'améliorer les résultats.

On peut, avec raison, se demander pourquoi l'amélioration des résultats n'a pas été plus importante. La réponse à cette question est devenue de plus en plus claire pour ceux qui travaillent dans ce domaine. En effet, les agents immuno-suppresseurs couramment employés nous extorquent, en terme de mortalité, une amende élevée.

18 chiens subirent une autotransplantation rénale dans la fosse iliaque contre-latérale. Ces chiens furent traités aux immuno-suppresseurs exactement comme s'ils avaient reçu de véritables homogreffes. La courbe de survie de ces chiens, durant la première année, ressemble étroitement à celle obtenue en homotransplantation humaine. Le taux des pertes fut sévère pendant les premiers temps et l'infection en fut la cause principale. De plus, nous avons continué à perdre des animaux, même longtemps après l'opération. Ici, pratiquement, tous les décès peuvent être attribués à la toxicité des immuno-suppresseurs puisqu'il n'y avait pas de barrière immunologique.

..

La conclusion de cette étude et des observations faites chez les receveurs humains d'une homogreffe, est claire : nous avons un urgent besoin d'agents immuno-suppresseurs nouveaux et meilleurs. C'est ce but que depuis longtemps nous poursuivons au laboratoire.

Depuis un an et demi nous travaillons sur une préparation anti-lymphocytaire dont j'aimerais mentionner quelques détails. Ce sérum est préparé chez le cheval par immunisation contre du tissu lymphoïde de chien ou d'homme. Des ganglions lymphatiques, des thymus ou des rates sont rincés par perfusion intra-artérielle dans le cas des rates — broyés et passés dans des filtres de dimensions décroissantes. Les cellules, finalement obtenues, sont suspendues en solution physiologique ; elles consistent pour 90 à 99 % de lymphocytes, le reste étant constitué de granulocytes. L'immunisation s'effectue par voie sous-cutanée, habituellement une fois par semaine.

La production d'anticorps chez le cheval est contrôlée par le titrage des leuco-agglutinines ; il est à noter que les titres obtenus sont superposables, qu'ils soient mesurés au moyen de leucocytes d'origine obtenus d'un culot de centrifugation, qu'il s'agisse de lymphocytes purs recueillis au niveau du canal thoracique. Cette dernière observation suggère, d'emblée, que nous n'avons pas obtenu un anticorps anti-lymphocyte absolument spécifique.

La quantité de cellules nécessaires à l'immunisation s'est révélée critique. Au début, quand nous nous servions de moins de 5 milliards de cellules par injection, nous n'obtenions que de modestes élévations du titre des anticorps. Plus tard, en utilisant jusqu'à 100 milliards de cellules, ces titres se sont élevés rapidement de 1 pour 16 000 à 1 pour 32 000, comme chez ce cheval immunisé par du tissu humain. Lorsque de grosses doses d'antigènes sont utilisées depuis le début, un sérum très riche en anticorps peut être obtenu de 20 à 75 jours.

Ce sérum ou ce plasma à l'état brut était toxique, tuant environ 1/3 des chiens chez qui il était administré par voie intra-péritonéale. Ceci pouvait s'expliquer en partie par la présence d'importantes quantités d'hémo-agglutinines. Cette toxicité fut éliminée en adsorbant le sérum de cheval contre des globules rouges et du sérum de chien. L'adsorption ultérieure contre des cellules hépatiques ou rénales n'en accrut pas l'inocuité, mais réduisit de façon drastique le titre des leuco-agglutinines. Ces dernières constatations indiquent également la non spécificité du sérum ; elles suggèrent aussi qu'un nom plus adéquat que « sérum anti-lymphocytaire » pourrait être « sérum anti-humain » ou « sérum anti-chien ».

Par la suite, nous avons tenté d'identifier les fractions actives de ces sérums, utilisant la chromatographie sur colonnes, l'électrophorèse ou l'immuno-électrophorèse. Les fractions actives se trouvent dans la gamma-globuline, la T-équine-globuline et la bêta-globuline.

Une autre méthode appropriée à la production de masse est basée sur la saturation en sulfate d'ammonium. Voici une globuline anti-humaine ainsi préparée, contenant les composants gamma, T-équine et bêta. Cette globuline a été utilisée en clinique.

Tous ces produits anti-lymphoïdes — plasma, sérum ou globuline — provoquent une lymphopénie lorsqu'ils sont administrés par voie intra-péritonéale, intra-veineuse, sous-cutanée ou intra-musculaire.

J'ai déjà mentionné que la globuline purifiée n'avait que peu ou pas de toxicité aiguë cliniquement observable. Il y a cependant une complication potentielle qui mérite une attention spéciale. Si chez l'animal les drogues anti-

lymphocytaires sont données par voie intra-veineuse, des dépôts, décelables au microscope électronique, apparaissent au niveau des glomérules de 2/3 des animaux. En utilisant la voie intra-musculaire ou sous-cutanée, ce phénomène apparaît chez un animal sur 3. Ces dépôts représentent de la globuline de cheval, de la gamma-globuline et le complément de l'hôte. Bien qu'il n'ait pas entraîné d'azotémie ou de protéinurie, il dresse la menace d'une néphrite de Masugi si l'on envisage un traitement de longue durée.

Une autre possibilité de morbidité à long terme réside dans l'éventualité d'une maladie sérique. Il y a cependant des raisons de croire que ce risque ne sera pas prohibitif. Voici les titres des précipitines anti-protéines de cheval mesurés chez des chiens recevant de la globuline de cheval non immunisé. En deux semaines, une élévation marquée se manifeste, atteignant environ 1 pour 256 ; par contre l'on n'observe qu'un accroissement très long et très minime si l'on utilise de la globuline de cheval immunisé.

Ceci suggère que les propriétés immuno-suppressives des produits anti-lymphocytaires ne dirigent la réponse de l'hôte qu'aux protéines étrangères. Cette constatation confirme d'ailleurs les observations semblables de GRAY, MONACO et RUSSEL et de LEVEY et MEDAWAR, au sujet des vertus d'auto-antidotes de tel sérum. Cliniquement, la menace d'une maladie sérique peut être décelée par la mesure des précipitines ou en suivant les titres des hémo-agglutinines vis-à-vis de globules rouges de moutons. Cette dernière technique évaluée chez l'homme la réponse à l'antigène de Forrman des protéines équiniques.

Les propriétés immuno-suppressives des produits anti-lymphocytaires sont faciles à démontrer. Je ne m'y étendrai donc pas.

La survie moyenne que voici fut calculée en accordant à chaque chien un crédit maximum de survie de 70 jours. Puisque de nombreux animaux vécut plus longtemps, les chiffres indiqués ici sont donc plutôt pessimistes.

Je voudrais surtout attirer votre attention sur certains points qui ont d'importantes implications cliniques.

Tout d'abord l'addition de la thymectomie au traitement par l'A.L.S. et son utilité.

Ensuite, les meilleurs résultats sont obtenus par la thérapeutique combinée pré et post-opératoires. Lorsque le traitement ne commence que le jour de l'opération ou se limite à la période pré-opératoire, les résultats sont médiocres.

Enfin, un mot de l'inter-action de l'A.L.S. et de l'azathioprine.

J'ai déjà souligné que la globuline anti-lymphocytaire, administrée à partir du jour de l'intervention, n'avait qu'un effet très faible. Il en est de même si la seule thérapeutique consiste en l'administration d'un mg/kg par jour d'azathioprine. Si cependant ces deux formes inefficaces de traitement sont associées, une amélioration sensible des résultats se manifeste. Ces constatations sont appuyées par les études quelque peu différentes rapportées par LEVEY et MEDAWAR. De la même façon, nous avons démontré la protection d'homogreffes orthotopiques du foie ainsi que nous en discuterons demain.

J'aimerais maintenant résumer ces observations, en soulignant particulièrement leurs applications cliniques possibles.

1° Il est clair que ces agents anti-lymphocytaires sont de puissants immuno-suppresseurs quoique leur efficacité soit quelque peu moindre que celle de l'azathioprine.

2° Ils peuvent être utilisés en combinaison avec l'azathioprine.

3° Les meilleurs résultats sont obtenus par le traitement pré et post-opératoires.

4° La thymectomie ne potentialise pas leur activité pour autant que nous puissions l'affirmer.

5° Ils comportent un risque potentiel double, à savoir la maladie sérique et la néphrotoxicité.

6° Pour toutes ces raisons ci-dessus mentionnées, l'usage le plus justifié de ces substances semble être celui d'agents adjuvants associés aux médicaments habituels pour une période relativement courte.

C'est dans cette perspective que la globuline anti-lymphocytaire a été utilisée à Denver, dans le traitement de nos patients, après homotransplantation rénale.

Cette globuline possédant un titre de leuco-agglutinine de 1 pour 16 000, a été administrée, dans 12 cas récents d'homotransplantation, en commençant cette médication de 5 à 35 jours avant l'opération. La dose variant de 2 à 1 ml I.M. a été donnée quotidiennement pendant environ 2 semaines après l'intervention, ensuite tous les deux jours, puis deux fois par semaine et, enfin, une fois par semaine. La globuline a été employée comme adjuvant au traitement standard à base d'azathioprine. Nous avons utilisé le moins de stéroïdes possibles. La formation d'anticorps humains contre les protéines de cheval a été appréciée par la mesure des titres des précipitines et des hémagglutinines contre les globules rouges de mouton.

Chez un patient, qui n'a jamais eu de rejet, les titres se sont élevés. Par crainte d'une maladie sérique, nous avons alors commencé un traitement stéroïde à petites doses.

Ces 12 patients vont tous bien, d'un mois à 5 mois 1/2 après la transplantation. Tous ont reçu des reins de donneurs apparentés. L'immuno-suppression standard donnée aux 8 premiers de ces patients a été ajoutée durant les 63 premiers jours post-opératoires. Le traitement fut moins vigoureux que dans aucune série comparable de patients précédemment traités à Denver. Les doses quotidiennes d'azathioprine furent moindres. L'amélioration la plus sensible fut notée avec la prednisone, dont bien moins de la moitié des doses habituelles fut nécessaire. Par ailleurs, ce bénéfice n'a été nullement diminué par une perte de la fonction rénale ainsi qu'on a pu le constater d'après les clearances de créatinine et les azotémies.

Ainsi que je l'ai mentionné précédemment, nous n'avons déploré aucun décès dans le groupe traité par la globuline, contrairement aux 2 à 7 morts dans chacune des séries précédentes couvrant la même période.

La thérapeutique anti-lymphocytaire a été également appliquée à 5 autres patients, victimes d'un rejet tardif. L'un d'eux est mort de défaillance rénale. Les autres sont encore en vie. L'application clinique que nous avons entreprise de cette globuline hétérologue ne constitue nullement un encouragement à son utilisation à vaste échelle. Ce médicament est actuellement hautement expérimental et comporte un risque encore incomplètement évalué.

Je vous remercie, Mesdames, Messieurs, de votre attention.